

刘会宁,姚晓雯. 葡萄霜霉病抗性与叶片生理生化指标的关系[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):180-182.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.051

葡萄霜霉病抗性与叶片生理生化指标的关系

刘会宁,姚晓雯

(长江大学园艺园林学院,湖北荆州 434025)

摘要:以维多利亚、矢富罗莎、研选 5 号、早紫、凤凰 51 号、9307 等 6 个欧亚种葡萄为试验材料,通过田间霜霉病调查,结合实验室测定健康叶片和感病叶片中的叶绿素含量、脯氨酸(Pro)含量、过氧化物酶(POD)活性、多酚氧化酶(PPO)活性,探讨各指标与葡萄抗霜霉病的关系。结果表明,研选 5 号、凤凰 51 号感染霜霉病范围较其他 4 个品种窄;依据国际植物种质委员会的标准划分抗病程度,供试品种(系)中除了 9307、维多利亚为感病品种外,其他 4 个品种均为抗病品种;供试品种的健康叶片与感病叶片间除 POD 活性呈负相关外,其他指标间均呈正相关;健康叶片与感病叶片中叶绿素含量相关性达到极显著,而 Pro 含量、POD 活性、PPO 活性间相关性不显著;供试品种感病叶片中 POD 活性与病情指数呈正相关,其他指标均呈负相关。

关键词:欧亚种葡萄;霜霉病;脯氨酸;叶绿素;多酚氧化酶;过氧化物酶

中图分类号: S436.631.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0180-03

葡萄是一种栽培价值很高的果树^[1],但生长过程中常遭受多种真菌病害危害^[2]。葡萄霜霉病(*Plasmopara viticola*)是葡萄真菌病害中危害最广的病害,该病起源于北美洲,在中国葡萄主要产区均有分布^[3]。该病主要危害葡萄叶片,也能感染新梢幼果等幼嫩组织,导致葡萄品质和产量下降。几乎所有的欧亚种葡萄(*Vitis vinifera*)都感染霜霉病,目前该病主要采取化学防治,但其后果是葡萄种植成本增加、果实品质下降、危害人体健康及破坏生态平衡^[4]。

国内外学者从多个方面对霜霉病的抗病机制进行了研究。在形态、组织结构方面,主要研究气孔密度、叶片形状、结构等与抗病性的关系^[5-9];在生化物质及生理指标方面,主要

探讨组织水、叶绿素、脯氨酸等各种物质含量及过氧化物酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶等活性与植物抗病性的关系^[10-19]。Marutyan 等研究发现,对葡萄霜霉病有高度抗性的杂种,其多酚氧化酶活性增加,而感病品种的活性下降^[12-13]。Rudyshin 发现,在受侵染的局部地方过氧化物酶活性大大提高,并出现坏死斑,叶片感染部分愈小,过氧化物酶活性愈低。感病品种受侵染时,真菌在整个叶片上繁衍,叶片各部分的过氧化物酶活性均比对照高^[14]。史娟等研究表明,苯丙烷类代谢与植物抗病性有密切关系,不同抗性的葡萄品种感染霜霉病菌后,叶片中的苯丙氨酸解氨酶(PAL)、木质素含量有差异^[15]。植物叶片和花茎中的叶绿体色素(叶绿素 a 和叶绿素 b)与霜霉病的抗性有关^[16]。叶绿素含量与感病性呈极显著正相关,即叶绿素含量愈低,品种感病性愈弱,即抗病性愈强^[17]。Margaryan 对葡萄品种的氮代谢进行了研究,发现所有感病植物的叶片总氮和蛋白氮含量下降,非蛋白氮含量上升 16%~28%,但抗病品种中非蛋白氮含量普遍降低,而铵态氮含量提高^[18]。

收稿日期:2014-11-27

基金项目:湖北省教育厅重点科研基金(编号:D20081201)。

作者简介:刘会宁(1965—),女,陕西杨凌人,硕士,教授,主要从事葡萄高效栽培及抗病性相关研究。E-mail:1020713085@qq.com。

参考文献:

- [1] 蒋金培,罗基同,王缉健,等. 桉树枝瘿姬小蜂成虫羽化量的研究[J]. 广西林业科学,2011,40(1):31-33.
- [2] 蒋金培,王缉健,陈江,等. 化学农药控制桉树枝瘿姬小蜂成虫羽化初试[J]. 广西林业科学,2009(3):137-140.
- [3] 林明生,徐家雄,赵丹阳,等. 虫线清乳油防治桉树枝瘿姬小蜂试验[J]. 广东林业科技,2009,25(1):41-44.
- [4] 吴耀军,奚福生,罗基同,等. 桉树枝瘿姬小蜂生物学特性及控制技术[J]. 广西植保,2009,22(2):5-8.
- [5] 罗基同,蒋金培,王缉健,等. 广西博白桉树枝瘿姬小蜂生物学特性研究[J]. 中国森林病虫,2011,30(4):10-12.
- [6] 朱方丽,韩鹏飞,任顺祥,等. 寄主植物对桉树枝瘿姬小蜂生物学特性的影响[J]. 应用昆虫学报,2011,48(5):1451-1457.
- [7] 张华峰,肖华,陈顺立,等. 不同桉树品种(系)对桉树枝瘿姬小蜂的适合度及生长发育的影响[J]. 江西农业大学学报,2013,35

(5):956-961,969.

- [8] 黄咏槐,张宁南,何普林,等. 不同桉树品系对桉树枝瘿姬小蜂抗性研究[J]. 中国生物防治学报,2014,30(3):316-322.
- [9] 徐家雄,任辉,赵丹阳,等. 桉树枝瘿姬小蜂种群发生规律与空间分布格局研究[J]. 广东林业科技,2008,24(6):50-57.
- [10] 杨秀好,陈尚文,秦江林,等. 桉树枝瘿姬小蜂种群发生预测与温度关系初步研究[J]. 安徽农学通报:下半月刊,2011,17(22):74-76.
- [11] 黄锐,程立生. 桉树枝瘿姬小蜂种群动态研究[J]. 热带作物学报,2013,34(5):978-983.
- [12] 刘慧清,金启安,韦曼丽,等. 海南桉树枝瘿姬小蜂成虫羽化量的研究[J]. 热带农业科学,2012,32(9):57-59,63.
- [13] 陈华,黄志平. 桉树枝瘿姬小蜂对桂中桉树幼林的危害调查及防治[J]. 广西林业科学,2014,43(2):158-163.
- [14] 黄锐,沙林华,程立生,等. 桉树枝瘿姬小蜂发生情况与分布型研究[J]. 热带农业科学,2014,34(6):44-47,53.

Marutyán 研究表明,感病杂种健康叶片谷氨酸和天门冬氨酸含量较高,感病后这些氨基酸含量下降,但抗病杂种感病后谷氨酸和天门冬氨酸含量却上升^[19]。本研究通过田间自然鉴定,结合生理生化指标测定,探讨不同欧亚种葡萄对霜霉病的抗性与各指标的关系,旨在为葡萄抗病机理研究及抗病育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以长江大学园艺园林学院实习基地塑料大棚中的研选 5 号、凤凰 51 号、矢富罗莎、维多利亚、早紫、9307 等 6 个欧亚种葡萄品种为材料,各品种植株均为 5 年生扦插苗,按 1 m×2 m 密度定植,单臂篱架、扇形整枝。试验期间所有品种采取同一方法管理。

1.2 方法

采取田间自然鉴定和实验室测定相结合的方法进行。实验室测定时选植株主梢中部叶片为材料,且感病叶选取能代表各品种感病程度的叶片。

1.2.1 田间自然鉴定 随机选取非边缘位置且长势大致相同的植株,单株小区,每个处理 3 次重复。对每个供试植株选同一方位、生长基本一致的主梢上所有叶片进行调查,使调查总叶片数不少于 200 片。记录总叶片数和感病叶片数,用透明方格纸法确定发病叶片的严重度,根据表 1 的分级标准记录叶片分级状况。

发病率、病情指数计算公式如下:

发病率 = $\frac{\text{调查病叶数}}{\text{调查总叶片数}} \times 100\%$;

病情指数 = $\frac{\sum(\text{病级值} \times \text{该级发病叶数})}{\text{最高病级值} \times \text{调查总叶片数}} \times 100$ 。

参照国际植物种质委员会 (IBPGR) 的标准,根据葡萄品种的病情指数,将叶片感染霜霉病程度分为 5 级 (表 2)。

表 1 葡萄霜霉病分级标准 (Desaymard) 分级法

级别	叶片病斑面积比例 (%)
0	0.0
1	0.1~2.5
2	2.6~5.0
3	5.1~15.0
4	15.1~30.0
5	30.1~50.0
6	50.1~70.0
7	70.1~85.0
8	85.1~95.0
9	95.1~97.5
10	97.6~100.0

表 2 葡萄霜霉病抗性分级

代表值	抗病程度	病情指数
1	免疫	0.0
2	高抗	0.1~5.0
3	抗病	5.1~25.0
4	感病	25.1~50.0
5	高感	50.1~100.0

1.2.2 实验室指标测定 植物组织中脯氨酸 (Pro) 和叶绿素含量的测定参照文献 [20] 的方法进行,过氧化物酶活性及多酚氧化酶活性的测定参照文献 [21] 的方法进行。

2 结果与分析

2.1 供试品种对霜霉病的抗性差异

从表 3 可见,供试品种 (系) 叶片霜霉病发病率为 20.48%~58.39%,平均为 38.12%;病情指数为 8.98~27.54,平均为 19.23。对供试品种霜霉病的发病率及病情指数进行方差分析,结果表明,从发病率来看,供试品种中的研选 5 号、凤凰 51 号与早紫、矢富罗莎间差异不显著,与维多利亚差异显著,与 9307 差异极显著;从病情指数来看,按国际种质委员会的 5 级标准可将供试品种分为 2 类,9307、维多利亚为感病品种,其余 4 个品种均为抗病品种。

表 3 供试品种霜霉病抗性比较

品种	发病率 (%)	病情指数	抗病程度
研选 5 号	20.48 bB	8.98cA	抗病
凤凰 51 号	23.65 bB	10.33bcA	抗病
早紫	32.84 abAB	19.13abcA	抗病
矢富罗莎	42.33 abAB	22.89abcA	抗病
维多利亚	51.01 aAB	26.50abA	感病
9307	58.39 aA	27.54aA	感病

注:在方差分析前已对病情指数进行反正弦转换;同列数据后不同大写字母、小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上差异显著。

2.2 供试品种健康叶片与感病叶片相关指标的比较

由表 4 可见,供试品种健康叶片中脯氨酸含量为 0.005 2%~0.014 4%,叶绿素含量为 1.601 0~2.053 3 mg/g,多酚氧化酶活性为 0.566 9~1.169 1 U/(min·g),过氧化物酶活性为 0.279 0~2.335 0 U/(min·g)。感病叶片中脯氨酸含量为 0.007 7%~0.016 1%,叶绿素含量为 1.116 0~1.373 0 mg/g,多酚氧化酶活性为 0.679 2~1.170 9 U/(min·g),过氧化物酶活性为 0.289 0~1.034 7 U/(min·g)。健康叶片与感病叶片中各指标对应的相关系数分别为脯氨酸含量为 0.653 9,叶绿素含量为 0.830 8 (极显著相关),多酚氧化酶活性为 0.697 9,过氧化物酶活性为 -0.145 8。

对各相关系数进行 t 测验,结果表明供试品种 (系) 健康叶片与感病叶片中的叶绿素含量相关性达到极显著水平;而脯氨酸含量、多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性间的相关性则不显著。说明叶片感病后上述指标均有变化,其中叶绿素含量下降,即随着叶片的感病程度加深,其叶绿素含量降低;各品种间过氧化物酶活性、多酚氧化酶活性和脯氨酸含量变化趋势不同。

2.3 供试品种病情指数与感病叶片中相关指标的关系

为探明葡萄感病后是否因相关指标变化而使各品种表现出不同程度的抗病性,本研究就供试品种病情指数与感病叶片中相关指标进行了相关分析。各供试品种病情指数与脯氨酸含量、叶绿素含量、多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性的相关系数分别为 -0.404 0、-0.413 7、-0.222 1、0.413 5。对其进行 t 测验,均未达到显著水平。供试品种感病叶片中除过氧化物酶活性与病情指数呈正相关外,其他均呈负相关。

表 4 健康叶片和感病叶片中各指标差异

品种	脯氨酸含量(%)		叶绿素含量(mg/L)		多酚氧化酶活性[U/(min·g)]		过氧化物酶活性[U/(min·g)]	
	健康叶片	感病叶片	健康叶片	感病叶片	健康叶片	感病叶片	健康叶片	感病叶片
研选 5 号	0.010 1	0.008 1	2.055 3	1.353 3	0.752 7	0.949 9	0.372 0	0.368 7
凤凰 51 号	0.008 2	0.012 0	1.924 3	1.373 0	0.927 2	1.004 3	2.335 0	0.390 7
早紫	0.010 2	0.012 7	1.705 7	1.116 0	0.786 9	1.170 9	0.279 0	0.357 0
矢富罗莎	0.005 2	0.007 7	1.601 0	1.141 0	1.169 1	1.132 7	0.354 0	0.289 0
维多利亚	0.014 4	0.014 3	1.668 7	1.245 0	1.056 7	1.023 6	0.345 0	1.034 7
9307	0.010 7	0.016 1	1.835 3	1.337 3	0.566 9	0.679 2	0.398 0	0.397 3

3 结论与讨论

本研究表明,供试欧亚种葡萄对霜霉病的抗性与脯氨酸含量、叶绿素含量、多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性均无显著相关。供试品种感染霜霉病叶片与健康叶片中各指标含量均有一定相关性,其中叶绿素含量间相关性达极显著水平。供试品种(系)感病叶片中的过氧化物酶活性与病情指数呈正相关,即随着叶片感病程度加深,过氧化物酶活性升高,这与 Rudyshin^[14]和于凤鸣^[22]的研究结果一致。感病叶片病情指数与其脯氨酸含量、叶绿素含量和多酚氧化酶活性均呈负相关,即多酚氧化酶活性越高,植株越不易感病,抗病性越强,这与 Marutyan^[12]和 Sriniasam 等^[13]在对葡萄霜霉病高度抗性的杂种上的研究结果一致。叶绿素含量与抗病性呈正相关,而贺普超等研究发现,叶绿素含量与感病性呈极显著正相关^[17],即叶绿素含量愈低的品种感病性愈弱、抗病性愈强的结果矛盾,这方面还有待进一步研究。另外,本研究表明脯氨酸含量与抗病性呈直线负相关,这与陈捷的研究结果^[23]一致。

霜霉病抗性机理涉及因素很多,本研究仅从脯氨酸含量、叶绿素含量、多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性等 4 个指标与葡萄对霜霉病的抗性关系进行了探讨,其他方面还有待进一步研究。

参考文献:

[1]黄晓东,邵迎,高安娜,等. 我国欧亚种葡萄研究文献分析[J]. 农业图书情报学刊,2005,17(10):136-139.

[2]刘永清,王国平. 葡萄病毒的检测与防治研究进展[J]. 植物防疫,2003,17(9):22-25.

[3]贺普超. 葡萄学[M]. 北京:中国农业出版社,1999:1-5.

[4]史娟,杨之伟. 过氧化物酶活性及其同工酶与葡萄对霜霉病抗性的关系[J]. 农业科学研究,2006,27(1):10-12.

[5]Zhang D S,Chen S Y. Molecular biology of plant disease resistance[J]. Acta Phytopathological Sinica,1997,27(2):97-103.

[6]Zhang Y S. Plant phytopathological physiology[M]. Nanjing:Jiangsu Scientific and Technological Press,1996:150.

[7]Boubals D A. Contribution to the study of causes of the resistance of vitaceae to downy mildew and their mode inheritance[J]. Plant Breeding Abstracts,1959,12(30):151-156.

[8]Tran M,Trizyk S S,Lerjeau C M. Simulation of the date of maturity of *Plasmopara viticolao* spores to predict the severity of primary infections in grapevine[J]. Plant Disease,1990,74(2):120-124.

[9]Boubals D. Rot and deterioration[J]. Review of Plant Pathology,1984,63(8):328-332.

[10]Wang X,Hou P,Yin L K,et al. Effect of tissue relative water content and membrane permeation of tamarix under soil-water stress slowly[J]. Arid Zone Research,1999,16(2):12-15.

[11]李兰真,赵会杰,杨会武,等. 小麦锈病与活性氧代谢的关系(简报)[J]. 植物生理学通讯,1999,35(2):115-117.

[12]Marutyan S A. Metabolic changes of new and elite forms of grapevine during infection by mildew[J]. Review of Pathology,1980,59(10):457-468.

[13]Sriniasam N,Jeyarajam R. arape downy mildew in India. II. Effect of infection on phenolics,sap concentration,organic acids and amjno acids[J]. Review of Plant Pathology,1980,59(120):572-576.

[14]Rudyshin S D. Peroxidase in the leaves in relation to study of readily soluble proteins and resistance in grapevine leaves in relation to resistance to downy mildew[J]. Plant Breeding Abstracts,1987,57(4):336-339.

[15]史娟. 宁夏贺兰山东麓酿酒和鲜食葡萄对霜霉病的抗性及其抗性机理研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2004:56-61.

[16]马丽君,沈铭尧,陈贵兴. 葡萄霜霉病的防治方法[J]. 果树科学,1996,13(1):70.

[17]贺普超,刘延琳. 葡萄属种间杂交一代对霜霉病抗性遗传的研究[J]. 园艺学报,1995,22(1):29-34.

[18]Margaryan A A. 某些葡萄杂种和栽培品种氮素化合物代谢作用同它们的霜害和霜霉病抗性的相关性[J]. 国外果树科技文摘,1981,34(10):1042-1047.

[19]Marutyan S A. Metabolic changes in leaves of new and elite forms of grapevine during infection by mildew[J]. Review of Plant Pathology,1980,59(10):457-460.

[20]邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000.

[21]高俊凤. 植物生理实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006.

[22]于凤鸣. 葡萄抗感霜霉病品种三项生化指标的比较(简报)[J]. 河北农业技术师范学院学报,1998,12(2):69-71.

[23]陈捷. 我国玉米穗、茎腐病病害研究现状与展望[J]. 沈阳农业大学学报,2000,31(5):393-401.